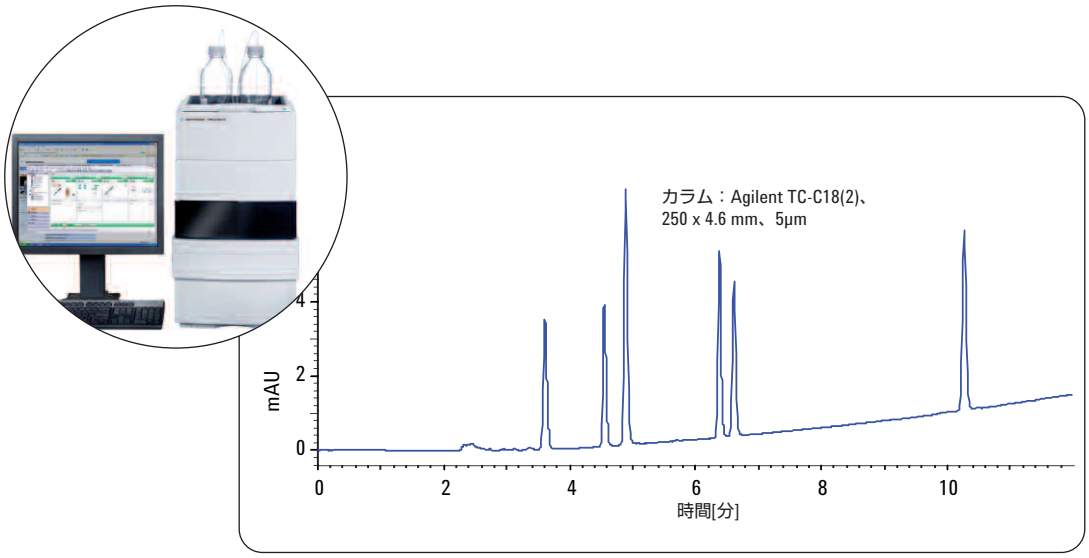
Agilent 1120 Compact LCによる トラマドール品質管理のシステム適合性試験

アプリケーションノート

Siji Joseph,
Patric Hörth



概要

Agilent 1120 Compact LCは、標準的な分析スケールの分析に最適な、使いやすく、高性能で、信頼性の高い一体型LCシステムです。保持時間やピーク面積の精度がきわめて高いことから、医薬品分析に適しています。本アプリケーションノートでは、以下のことを実証します：

- 相対標準偏差（RSD）< 0.07%という優れた保持時間精度
- ベースライン分離したピークの優れた面積精度（RSD < 0.25%）
- ベースライン分離したピークの優れたピーク高精度（RSD < 0.25%）

アジレント装置

- Agilent 1120 Compact LC
- Agilent TC-C18(2)カラム

アプリケーション分野

- 医薬品分析：QA/QC

Agilent Technologies

はじめに

システム適合性試験（SST）は、日常的な機器性能の測定手法です。
こうした試験は、メソッドやHPLCシステムで生成される結果が許容範囲内の精度に収まっているかどうかを確認するためのものです。試験の基準は、分離能、保持時間やピーク面積およびピーク高の再現性、カラム効率、そしてこれらのパラメータの許容変動値（標準偏差）といった主要なクロマトグラフ条件をもとに選択します。これらの基準値は、メソッドバリデーションの過程で決定します。
現在では、SST測定は分析手順の一部となっており、薬局方で推奨され米国食品医薬品局（FDA）に受け入れられています。

アプリケーションノートでは、この最終的なバリデーション手順に注目し、鎮痛剤トラマドールと、その前駆物質から生じる可能性のある不純物の分析におけるAgilent 1120 Compact LCシステムの適合性を評価しました。

図1
Agilent 1120 Compact LC

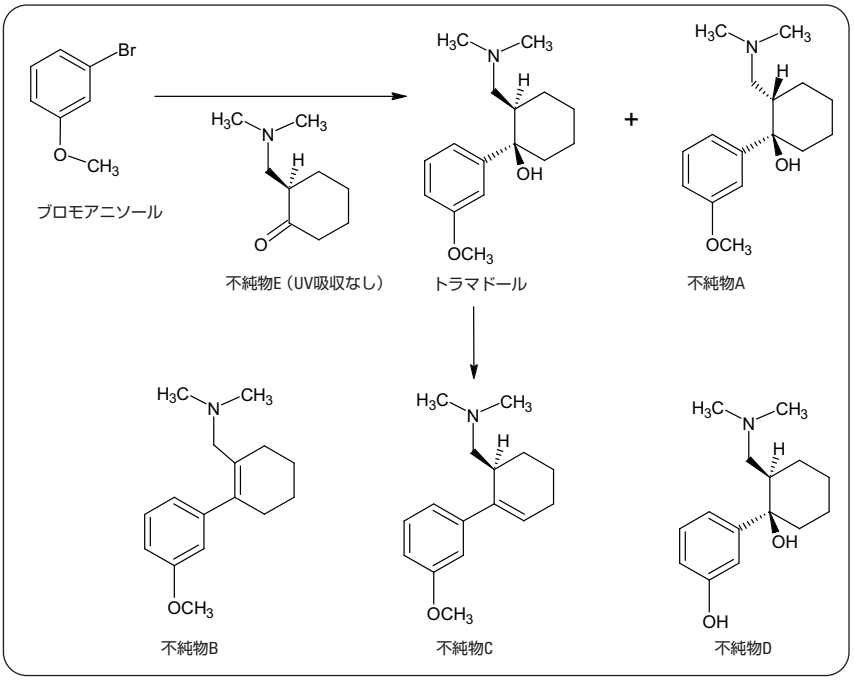


図2
トラマドール合成により生じる化合物の構造

実験手法

使用装置

以下を搭載したAgilent 1120 Compact LCシステム：

- 低圧グラジエントポンプ
- オートサンプラ
- カラム恒温槽
- 可変波長UV-Vis検出器（VWD）

すべての分離において、Agilent TC（Typical Carbonロード）-C18（2）カラム（250 x 4.6 mm、粒子径5µm）を使用しました。装置のコントロールにはAgilent EZChrom Elite Compactソフトウェア（コンプライアンス対応オプション使用）を用いました。

使用する化合物の構造

図2には、出発物質と予想される副生成物に注目したトラマドールの合成図を示しています。本研究では、紫外線（UV）吸収のない出発物質の一つである不純物Eを除いたすべての化合物を対象としました。

サンプル調製

原料調製：2mg/mLのトラマドールと各5mg/mLの出発物質（3-ブロモアニソール）および不純物A、B、C、Dを調製し、6種類の原液を作成しました。

システム適合性サンプル：トラマドール10µg/mLとすべての出発物質／不純物各5µg/mLのシステム適合性試験用のサンプルを調製しました。この混合液を6回にわたって注入し、システム適合性を測定しました。

クロマトグラフ条件

すべての化合物がベースラインで分離されるようにクロマトグラフ条件を設定しました。条件は以下のとおりです：

- サンプル；トラマドール；不純物A、B、C、D；3ブロモアニソール
- カラム：Agilent TC-C18（2）、250 x 4.6 mm、5µm
- 移動相：
  A = 水＋0.2％トリフルオロ酢酸（TFA）、
  B = アセトニトリル＋ 0.16 ％ TFA
- 流速：1.2 mL/min
- グラジエント：0分で30%B、9分で85%B、その後3分間この比率を維持
- 注入量：10 ㎕
- オートサンプラには、ニードル洗浄用の洗浄バイアル（アセトニトリルを使用）を装備しました
- 分析時間：12分
- ポストタイム：5分
- カラムオーブン：30℃
- 検出：UV、270 nm、
  ピーク幅（PW）> 0.05分
- 希釈液／ブランク：アセトニトリル：水＝30：70

シーケンス表

ICHの推奨するシステム適合性試験の要件にもとづき、Agilent EZChrom Elite Compact ソフトウェアで表1に示すシーケンス表を設定しました。

ライン	ロケーション	サンプル名	注入回数	注入量 (µL)
1	バイアル1	ブランク	3	10
2	バイアル2	システム適合性	6	10
3	バイアル3	ブランク	1	10

表1
シーケンス表

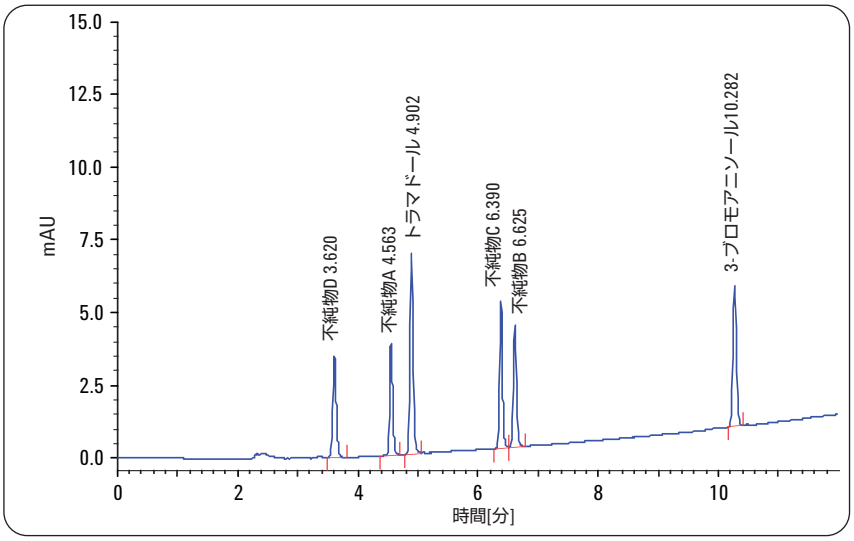


図3
トラマドールと不純物、出発物質のクロマトグラム

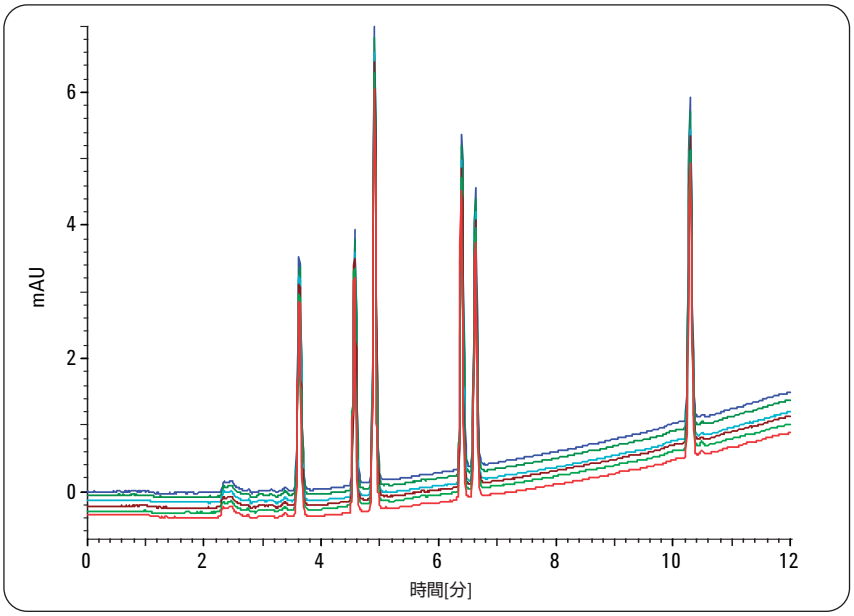


図4
6回にわたる繰り返し分析のクロマトグラムの重ね表示

結果と考察

図3のシステム適合性試験のクロマトグラムでは、優れた分離能が示されています。分離時間は12分でした。カラム再平衡化時間を含む総分析時間は17分以内でした。移動相にはトリフルオロ酢酸を添加しました。これにより、ピーク形状が向上します。

UV検出により医薬品を分析する場合、保持時間の精度がもっとも重要な要素となります。システム適合性サンプルを6回にわたって注入し、保持時間と面積の精度を測定しました。図4では、分析6回のクロマトグラムを重ねて表示しています。

本システム適合性試験で望ましいと思われる基準については、表2に記載しています。

パラメータ	限界値
保持時間（RT）のRSD	< 0.07 %
ピーク面積のRSD	< 1.0 %
分離能	> 2.0
非対称性	< 2.00
理論段	> 2000
ピーク幅	< 0.08 min
ピーク高のRSD	< 0.50 %

表2
望ましい基準

システム適合性試験の結果を図4と表3に示しています。トラマドールを用いた本システム適合性試験の結果では、Agilent 1120 Compact LCが医薬品QA/QC分析に求められる厳しい性能要件を満たすことが示されています。

化合物	250 x 4.6 mm Agilent TC-C18 5µmカラムにおける結果								合否
	量 (µg/mL)	RTの RSD(%)	面積の RSD (%)	分離能	PW (分)	非対称性	理論段	ピーク高の RSD(%)	(yes/no)
トラマドール	10.1	0.028	0.082	3.58	0.05	1.13830	> 40000	0.222	Yes
不純物A	5.2	0.030	0.142	9.03	0.05	1.13608	> 35000	0.205	Yes
不純物B	5.3	0.021	0.230	2.52	0.05	1.11924	> 60000	0.203	Yes
不純物C	5.2	0.023	0.124	15.97	0.05	1.12147	> 60000	0.208	Yes
不純物D	5.1	0.035	0.216	N/A*	0.07	1.12085	> 16000	0.201	Yes
3-ブロモアニソール	5.2	0.012	0.218	36.38	0.06	1.07344	> 60000	0.241	Yes

*N/A =該当せず

表3
システム適合性試験の結果

まとめ

Agilent 1120 Compact LCは、保持時間と面積の精度がきわめて高いことから、医薬品QA/QCに理想的なシステムといえます。本研究では、保持時間精度は <0.04%RSD、ピークの面積精度は <0.25%RSDでした。

Siji Josephは、Agilent Technologies ライフサイエンスセンター（インド）のアプリケーションサイエンティストです。
Patric Hörthは、Agilent Technologies（ドイツ）のR&Dケミストです。

www.agilent.com/chem/jp

本文書掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

© 2008 Agilent Technologies Inc.
Printed in Japan, Published April 1, 2008
5989-8334JAJP

Agilent Technologies